



دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع دکتری تخصصی رشته علوم اعصاب

عنوان:

بررسی تغییرات غلظت گلوتامات، گابا و میزان بیان BDNF در هیپوکامپ و ارزیابی حافظه فضایی در موش های صحرایی نر نوروپاتیک

توسط: سپیده صفارپور

استاد راهنما: دکتر محمد شعبانی - دکتر فریناز نصیری نژاد

استاد مشاور: دکتر مریم فرهمندفر - دکتر سعید اسماعیلی ماهانی - دکتر ناصر نقدی

سال تحصیلی: ۱۳۹۵ - ۱۳۹۶



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of Medicine

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

(PhD)

Title:

Evaluation of hippocampal glutamate, GABA and BDNF levels associated with spatial memory performance in a rodent model of neuropathic pain

By: Sepideh Saffarpour

Supervisors:

- 1- Dr. Mohammad Shabani**
- 2- Dr. Farinaz Nasirinezhad**

Advisors:

- 1- Dr. Maryam Farahmandfar**
- 2- Dr. Saeed Esmacili-Mahani**
- 3- Dr. Naser Naghdi**

Year: 2017

چکیده

مقدمه و اهداف: بیماران مبتلا به درد نوروپاتیک معمولاً از نقص در یادگیری و حافظه خود شکایت دارند که این امر بر کیفیت زندگی آنان تأثیر منفی چشمگیری دارد. با وجود برخی مطالعات کلینیکی و آزمایشگاهی مکانیسم ایجاد این نقص تاکنون روشن نشده است. به همین منظور در این تحقیق اثر نوروپاتی محیطی بر میزان BDNF و آزادسازی گلوتامات و گابا (گاما آمینو بوتیریک اسید) در ناحیه CA1 هیپوکمپ بررسی شده تا بتواند توضیحی برای اختلال یادگیری و حافظه دیده شده در زمینه درد نوروپاتیک باشد.

روش کار: در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد که به طور تصادفی در سه گروه کنترل، شام و نوروپاتیک تقسیم‌بندی شدند. درد نوروپاتیک با استفاده از مدل فشردگی عصب سیاتیک یا CCI القا شده و در پی آن آلودینیای سرمایی و مکانیکی به ترتیب با کمک آزمون‌های رفتاری تست استون و ست Von frey اندازه‌گیری شد. با به‌کارگیری آزمون ماز آبی موریس، یادگیری و حافظه فضایی در حیوانات ارزیابی شده و جهت تعیین و توضیح مکانیسم احتمالی مشاهدات در زمینه یادگیری و حافظه فضایی و درد نوروپاتیک، سطح خارج سلولی نوروترانسمیترهای گلوتامات و گابا با تکنیک میکرودیالیز و HPLC در شرایط *in vivo* و میزان BDNF با روش Western blot و Real time PCR در ناحیه CA1 هیپوکمپ اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد فشردگی عصب سیاتیک موجب القای درد نوروپاتیک، نقص یادگیری و حافظه در آزمون ماز آبی موریس درموش‌های صحرایی نر می‌شود. در موش‌های صحرایی نر نوروپاتیک میزان BDNF و غلظت گلوتامات به طور معنی‌دار در ناحیه CA1 هیپوکمپ در زمان حداکثر درد کاهش یافته ($P < 0.001$, $F = 7.3$) و $F = 23.23$ در حالی که سطح نوروترانسمیتر گابا در این ناحیه افزایش معنی‌دار داشته است ($P < 0.001$, $F = 39.2$). در هفته سوم پس از جراحی CCI که درد به طور خود به خودی تخفیف پیدا کرد تغییرات نوروترانسمیترها و BDNF معکوس شده و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بهبود یافت.

نتیجه‌گیری: درد نوروپاتیک ناشی از فشردگی عصب سیاتیک، باعث القای نقص یادگیری و حافظه فضایی در موش‌های صحرایی نر می‌شود. این اثر ممکن است ناشی از افزایش غلظت گابا و کاهش سطح گلوتامات و BDNF در ناحیه CA1 هیپوکمپ باشد.

کلید واژه‌ها: درد نوروپاتیک، هیپوکمپ، حافظه فضایی، گلوتامات، گابا، BDNF

Abstract

Background: Patients with chronic pain usually suffer from learning and memory impairments which may significantly decrease their quality of life. Despite laboratory and clinical studies, the mechanism underlying this memory impairment remains elusive. In this assay the effect of peripheral neuropathic pain on the glutamate and GABA levels and BDNF expression were evaluated in the CA1 region of hippocampus as a possible explanation for memory impairment related to neuropathic pain.

Methods: In this respect, male rats were randomly allocated to 3 groups as control, sham and neuropathic. Neuropathic pain was induced by a chronic constriction injury of the sciatic nerve (CCI) and mechanical allodynia and the spatial memory was assessed using the Von Frey filaments and Morris water maze respectively. To determine the potential mechanisms, the in vivo extracellular levels of glutamate and γ aminobutyric acid (GABA) were measured by microdialysis and the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression was determined by using RT-PCR and western blots techniques in the hippocampus on days 14 and 21 post CCI.

Results: We showed that CCI impaired spatial learning and memory in the Morris Water Maze (MWM) task. BDNF expression level and glutamate concentration significantly decreased in rats with chronic constriction injury of the sciatic nerve ($P < 0.001$, $F = 7.3$, $F = 23.23$). In addition, GABA increased in hippocampal CA1 region ($P < 0.001$, $F = 39.2$) when the pain threshold was minimum. Nevertheless, these changes reversed while pain was relieved spontaneously.

Conclusion: Chronic pain induced by constriction of the sciatic nerve impairs the spatial learning and memory function in rats. This effect exerts through the increase in GABA concentration and decrease in the glutamate and BDNF levels in the CA1 region of the hippocampus.

Keywords: Neuropathic pain; chronic constriction injury (CCI); Hippocampus; Spatial memory; Morris water maze task; Glutamate, γ -aminobutyric acid (GABA), Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)



دانشگاه علوم پزشکی کرمان

مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه

بسمه تعالی
صورتحلیسه دفاع از پایان نامه

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی خانم سیده صفارپور دانشجوی دکتری تخصصی (Ph.D) رشته علوم اعصاب دانشگاه پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان "بررسی تغییرات عملکرد گوناگونی، گلیا و بیان BDNF در هیپوکامپ و ارزیابی حافظه فضایی در رت های نوروپاتیک" در ساعت ۱۱ صبح روز دوشنبه مورخ ۹۶/۷/۱۷ با حضور اعضای محترم هیات داوران به شرح ذیل:

سمت	نام و نام خانوادگی	امضاء
رئیس هیات داوران (راهنما)	۱- جناب آقای دکتر محمد شمس	
	۲- سرکار خانم دکتر فریاد صوری نژاد	
رئیس هیات داوران (مشاور)	۱- سرکار خانم دکتر مریم فرهادی	
	۲- جناب آقای دکتر سعید اسماعیلی ماهانی	
	۳- جناب آقای دکتر ناصر نقدی	
ح عضو هیات داوران (داخلی)	جناب آقای دکتر داوود کلانتر سیمانی	
ح عضو هیات داوران (داخلی)	جناب آقای دکتر محمد اسدی	
د عضو هیات داوران (خارجی)	سرکار خانم دکتر لادن عمادی	
د عضو هیات داوران (خارجی)	جناب آقای دکتر علی شمس زاده	
ه نماینده تحصیلات تکمیلی	جناب آقای دکتر محمدرضا آفریش	

تسکيل گرديد و ضمن اوريدن به شرح پيوست با درجه عالی و نمره ۱۹،۳۳ مورد تصويب قرار گرفت.

مهر و امضاء معاون آموزشی
دانشگاه پزشکی اصفهان